

**Polymyxin B - Konzentrationen in der Milch
nach intramammärer Verabreichung
in verschiedenen Dosierungen
bei eutergesunden Kühen**

von

Ekkehard Leiber

München 1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554823_0074

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K. Walser

**POLYMYXIN B - KONZENTRATIONEN IN DER MILCH NACH
INTRAMAMMÄRER VERABREICHUNG IN VERSCHIEDENEN
DOSIERUNGEN BEI EUTERGESUNDEN KÜHEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ekkehard Leiber

aus

Furtwangen

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. K. Walser

Korreferent: Prof. Dr. G. Terplan

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1. Polymyxin B	2
2.1.1. Herkunft, Chemie	2
2.1.2. Wirkungsspektrum und Resistenzen	3
2.1.3. Wirkungsweise	5
2.1.3.1. Bakterizide Wirkung	5
2.1.3.2. Endotoxinneutralisierende Wirkung	5
2.1.4. Aktivitätsänderungen	7
2.1.5. MHK - Werte	9
2.1.6. Pharmakokinetik	11
2.1.6.1. Pharmakokinetik nach parenteraler Applikation	11
2.1.6.2. Pharmakokinetik nach intramammärer Applikation	13
2.1.7. Nebenwirkungen	16
2.1.8. Indikation und Dosierung bei akuten Coli-Mastitiden	16
2.2. Darstellung von Wirkstoffkonzentrationen in der Milch als Leitlinie für die Therapie	19
3. Eigene Untersuchungen	21
3.1. Material	21
3.1.1. Präparat	21
3.1.2. Untersuchte Tiere	21
3.2. Methode	22
3.2.1. Behandlung der Tiere	22
3.2.2. Probenentnahme	23
3.2.3. Antibiotikumnachweis	23
3.2.3.1. Versuche mit Bordetella bronchiseptica als Testkeim	24

	Seite
4. Ergebnisse	27
4.1. Versuch I	27
4.2. Versuch II	44
4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse von Versuch I und II	47
5. Diskussion	49
5.1. Diskussion der Methode	49
5.2. Diskussion der Ergebnisse	50
6. Zusammenfassung	56
7. Summary	57
8. Literaturverzeichnis	58

1. Einleitung

Zu den immer wiederkehrenden Praxisfällen in der Großtierpraxis zählt die akute Mastitis des Rindes. Obwohl durch nahezu jeden Erreger hervorzurufen, werden *E. coli* bzw. coliforme Keime in 40 - 50% aller Fälle als Verursacher nachgewiesen. Unter den vielen, zur Behandlung verwendeten Antibiotika kommt dem Polymyxin B eine herausragende Bedeutung zu, da Resistenzen von *E. coli* gegen Polymyxin B kaum bekannt sind. Die in der Literatur angegebenen Dosierungsvorschläge und in Fertigpräparaten enthaltenen Mengen an Polymyxin B umfassen eine Spannweite von etwa 10.000 - 5 Mio. IE Polymyxin B, ohne daß systematische Untersuchungen über klinisch wirksame Dosierungen vorliegen.

In dieser Arbeit sollte versucht werden, anhand von Milchspiegelkurven eine Orientierungshilfe zur Erzielung optimal wirksamer Polymyxin B - Konzentrationen in der Milch zu geben.

2. Literatur

2.1. Polymyxin B

2.1.1. Herkunft, Chemie

Die Polymyxine gehören zur Gruppe der Peptidantibiotika. Polymyxin ist ein Stoffwechselprodukt aus *Bacillus polymyxa*, 1947 von BROWNEE isoliert und beschrieben. Im Laufe der Zeit erwiesen sich die Polymyxine als Komplex der basischen Polypeptide Polymyxin A - E und M. Praktische Bedeutung erlangten jedoch nur Polymyxin B und E sowie das 1950 aus *Bac. colistinus* isolierte, mit Polymyxin E identische Colistin (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Die Polymyxine sind basische, cyclische Oktapeptide mit einer Peptidseitenkette, an deren Ende eine Fettsäure (Isopelargonsäure) steht (WALTER und HEILMEYER, 1975). An Aminosäuren enthalten sie L- α , γ - Diaminobuttersäure, L-Threonin und L-Leucin; Polymyxin B zusätzlich D-Phenylalanin und Polymyxin E L-Leucin (MEYERS et al, 1975). Das Molekulargewicht wird von WALTER und HEILMEYER (1975) mit 1200, von MEYERS et al (1975) mit 1400 und von ZIV und SCHULTZE (1982 b) mit 1500 angegeben.

Die Polymyxin B - Base ist ein schwachgelbliches Pulver, haltbar und thermostabil. Es ist bis zu 25 mg/ml wasserlöslich, ebenso in Methylalkohol, während es sich in höheren Alkoholen und organischen Lösungsmitteln kaum löst. Die wäßrige Lösung besitzt einen pH-Wert von 5,0 bis 7,5. Im pH-Bereich von 2 - 7 ist sie thermostabil, besonders bei pH 3 - 5. In stark saurem und alkalischem Milieu wird sie rasch inaktiviert. Die Lösung bleibt bei + 4°C 14 Tage haltbar (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.1.2. Wirkungsspektrum und Resistenzen

Polymyxin B und Colistin wirken nur gegen gramnegative Bakterien, vor allem gegen *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *E. coli*, Salmonellen, Shigellen, *Haemophilus* - Arten und Brucellen. Polymyxin B und Colistin scheinen nur gegenüber extrazellulär gelagerten Keimen wirksam zu sein, da sie, trotz ausreichender in vitro-Wirksamkeit klinisch bei Brucellose und Typhus unwirksam sind (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Die Polymyxine penetrieren nicht in Zellen. Phagozytierte oder intrazellulär gelagerte Keime bleiben unbeeinflusst (MEYERS et al, 1975).

Die Häufigkeit resistenter Varianten coliformer Keime gegenüber Polymyxin B und Colistin liegt unter 5-10%. Resistenzsteigerungen in vitro sind gegenüber Polymyxin B und Colistin kaum erreichbar und unter der Therapie nicht zu befürchten. Zwischen Polymyxin B und Colistin besteht eine komplette Kreuzresistenz (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Bei allen, zur Säuglingsdyspepsie führenden klassischen und neuen Serotypen von *E. coli* wurden keine gegen Polymyxin B resistenten Enteritis-Koli beobachtet (LINZENMEIER et al, 1961).

SPRANGER (1961) prüfte das Resistenzverhalten von 78 Koli-Stämmen und fand keinen, der gegen Polymyxin B resistent war. Es zeigte sich eine eindeutige Überlegenheit von Polymyxin B gegenüber allen anderen geprüften Antibiotika.

Übertragbare Resistenzen und ihre Induktion gegen *E. coli*-Keime von landwirtschaftlichen Nutztieren sind selten oder fehlen ganz. Die Aktivität der Polymyxine gegen gramnegative, pathogene Bakterien einschließlich *Pseudomonas aeruginosa* hat sich über mehr als 30 Jahre nicht vermindert (GARROD et al, 1978).

SØGAARD (1982 a) untersuchte 2426, aus Tieren isolierte *E. coli*-Stämme. Von diesen wurden 62 als resistent gegenüber Polymyxin B eingestuft. Dies entsprach einem Prozentsatz von 2,6%. Er wies jedoch darauf hin, daß die Ursache dieser unbedeutenden Resistenzquote möglicherweise in der geringen Verwendung der Polymyxine in der Veterinärmedizin liegt.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß Colistin während der letzten 10-20 Jahre intensiv in Frankreich eingesetzt wurde. Die in einer vergleichbaren Untersuchung in Frankreich (BRILLOT, 1981) gefundene Resistenzquote von *E. coli* gegen Colistin betrug jedoch nur 3,6%. In den letzten 14 Jahren wurde keine ansteigende Tendenz bei der Resistenzlage von *E. coli* gegen Polymyxin B festgestellt (SØGAARD, 1982 a).

Bei aus dem Sekret akuter Mastitiden isolierten *E. coli* konnten keine Resistenzen festgestellt werden (MC DONALD et al, 1977; BERCHTOLD, 1982; SØGAARD, 1982 b; SCHIFFERLI et al, 1984).

In einer Untersuchung über die Chemotherapeutika-Resistenz gramnegativer Mastitiserreger wurden die vergleichsweise niedrigsten Resistenzquoten bei Gentamicin (0%), Polymyxin B (8,1%) und Neomycin (19,9%) gefunden. Die gesondert untersuchten *E. coli*-Isolate zeigten eine komplette Empfindlichkeit gegenüber Polymyxin B. Die im Rahmen dieser Untersuchung gefundenen Resistenzquoten sind den aus der Humanmedizin berichteten erstaunlich ähnlich (GEDEK, 1984).

Unter vergleichbaren Bedingungen ermittelte die PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT FÜR CHEMOTHERAPIE (1982) bei einer Vielzahl von klinischen E. coli-Isolaten vom Menschen eine Resistenzquote von 1% bei Polymyxin E.

2.1.3. Wirkungsweise

2.1.3.1. Bakterizide Wirkung

Der Wirkungsmechanismus der Polymyxine beruht auf Wechselwirkungen mit sauren Bestandteilen der Bakterienoberfläche. Es kommt zu einer Komplexbildung mit Lipopolysacchariden in der äußeren Membran, gefolgt von Reaktionen mit Phospholipiden der Zytoplasmamembran, die eine Schädigung der Transportmechanismen und den Verlust von Zellbestandteilen zur Folge haben. Die Auswirkungen entsprechen denen eines osmotischen Schocks. Polymyxin-Moleküle gelangen außerdem ins Zellinnere, wo sie mit Ribosomen und freien Nukleinsäuren reagieren. Es kommt zu einer allgemeinen Synthesehemmung von Makromolekülen mit letalem Ausgang für die Bakterienzelle (FORTH, 1983).

2.1.3.2. Endotoxinneutralisierende Wirkung

Polymyxin B und Colistin wirken jedoch nicht nur bakterio-statisch bzw. bakterizid, sondern sind auch in der Lage, das von E. coli gebildete Endotoxin teilweise zu neutralisieren.

In einem Versuch mit Kaninchen wiesen VAN MIERT und VAN DUIN (1977) nach, daß durch i.v. Injektion von E. coli - Lipopolysaccharid erzeugtes Fieber durch eine Behandlung mit Polymyxin B deutlich gesenkt werden konnte.

Sie vermuteten eine Interaktion zwischen dem kationischen Makromolekül und dem anionischen Endotoxinmolekül.

Zum gleichen Ergebnis gelangten ZIV et al (1978). Euter-
gesunden Kühen wurde sterile Kochsalzlösung in das Euter
instilliert. Nach 8 Stunden wurde das Sekret dieser, durch
NaCl-Instillation hervorgerufenen sterilen Euterentzündung
gewonnen. Diesem Sekret wurden die Endotoxine 4 verschiedener
E. coli-Stämme in bekannten Konzentrationen zugesetzt,
Polymyxin B und Colistin in verschiedenen Konzentrationen
beigegeben und die Restaktivität der Endotoxine bestimmt. 100
µg/ml Polymyxin B und Colistin inaktivieren 200 ng Endotoxin
pro ml Sekret. Bei 25 µg/ml wurden noch 20 ng und bei 5 µg/ml
Polymyxin B und Colistin noch 2 ng Endotoxin pro ml Sekret
neutralisiert.

Eine positive Beziehung zwischen der Dosierung des intra-
mammär verabreichten Endotoxins und der Wirkung auf die
Plasmahöchstwerte von Zn und Fe konnten VERHEIJDEN et al
(1982) feststellen. Anscheinend blockiert die intramammäre
Gabe von Polymyxin B-Sulfat vor der Endotoxingabe die Wirkung
des Endotoxins, was sich durch eine geringere Abnahme des
plasmatischen Zn und Fe-Gehaltes zeigt.

Die Endotoxinspiegel bei akuten E. coli-Mastitiden scheinen
recht hoch zu sein. Endotoxin Spuren wurden teilweise noch bei
einer 10^9 -fachen Verdünnung des aus akut mit E. coli
infizierten Euterviertels gewonnenen Sekrets gefunden
(HARTMANN, ZIV und SARAN, 1976).

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß bei genügend hoher
Dosierung von Polymyxin B und Colistin die Endotoxin -
Aktivität bei akuten E. coli-Mastitiden gehemmt wird (ZIV et
al, 1978).

2.1.4. Aktivitätsänderungen

Nach SABATH (1978) können folgende Faktoren die Wirksamkeit von Antibiotika *in vivo* steigern:

1. Biotransformation des verabreichten Antibiotikums zu einem aktiveren Molekül.
2. pH-Wert des Infektherdes durch Abnahme der elektrischen Ladung des Antibiotikums, Abnahme der Aktivität inaktivierender Enzyme, Zunahme der Wirksamkeit autolytischer Enzyme und Verbesserung der Antibiotikaverteilung im Gewebe.
3. Erhöhte Körpertemperatur des Wirtes; sie kann zu größerer Empfindlichkeit der Erreger führen.

Polymyxinsulfomethylderivate werden zu dem aktiveren Polymyxin B-Sulfat umgewandelt (SABATH, 1978).

Die Sulfo-Methyl-Komplexe setzen langsam das aktive Peptid frei. Die Sulfate können deshalb nicht mit der Wirksamkeit der Methylsulfonate eines anderen Polymyxins verglichen werden (MEYERS et al, 1975).

Umgekehrt können folgende Wirtsfaktoren die Aktivität von Antibiotika *in vivo* herabsetzen (SABATH, 1978):

1. Metabolismus des Antibiotikums zu weniger aktiven Formen.
2. pH-Wert des Infektherdes.
3. Bindung an Albumin oder andere Serum- oder Gewebsbestandteile.

Parenteral injizierte Polymyxine werden stark an Proteine, Zellbestandteile, saure Phospholipide und eitrige Exsudate gebunden (MEYERS et al, 1975).

Die Polymyxine werden antagonisiert durch zweiwertige Kationen (Fe^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} , Mg^{++}), ungesättigte Fettsäuren und Polyphosphate. Die Colistin-Inaktivierung erfordert Ca^{++} - Konzentrationen von 10^3 Mol (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Die antibakterielle Aktivität wird jedoch nicht in einem, an Ca^{++} reichen Medium wie Milch gemindert (ZIV et al, 1982 a).

Die Eiweißbindung und -Inaktivierung von Polymyxin B und Colistin scheint gering zu sein. Bei Zusatz von 30% Humanserum zum Testsubstrat verändern sich die MHK-Werte nur geringgradig (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Im Gegensatz dazu berichteten REIMER et al (1981) von einem eindeutigen Wirkungsverlust von Polymyxin B bei Zugabe von Humanserum.

Eine hohe Konzentration an gebundenem Polymyxin B und Colistin weisen Niere, Leber, Lunge, Herz und Skelettmuskulatur auf (ZIV et al, 1982 a). Sie liegen überwiegend in mikrobiologisch nicht aktiver Form vor (ZIV, 1980 b). Die Polymyxine sind bei Rindern zu 45 - 50% an Serumprotein gebunden (ZIV und SULMANN, 1972). Sie werden durch Homogenate gesunder Gewebe inaktiviert. Die Wirkung scheint auf einer unspezifischen elektrostatischen Bindung mit unloslichen, negativ geladenen intrazellulären Substanzen zu beruhen (CRAIG und KUNIN, 1976). Die Bindung an Zellmembranen bewirkt vermutlich die kumulative Toxizität der Polymyxine, wodurch sich ihre geringere Wirkung in vivo gegenüber der in vitro erklärt (ZIV et al, 1982 a).

Unterschiedliche Therapieerfolge treten bei der systemischen Behandlung von durch gramnegative Bakterien hervorgerufenen Infektionen beim Menschen auf (CRAIG und KUNIN, 1976). Der Grund liegt vermutlich in einer Inaktivierung durch nekrotische Gewebsbestandteile und Eiter. Es konnte gezeigt werden, daß 1 ml eitriges Exsudat in der Lage ist, 1500 µg Polymyxin B- oder Colistin-Sulfat zu binden und zu inaktivieren (BRYANT und HAMMOND, 1974).

2.1.5. MHK-Werte

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) ist die niedrigste Konzentration eines Wirkstoffes in µg/ml (oder in "Einheiten je ml"), bei der die Vermehrung einer Keimpopulation unter definierten Bedingungen verhindert wird (DIN 58940 Teil 1, 1979)

Die MHK von Polymyxin B gegen *E. coli* beträgt nach WALTER und HEILMEYER (1975) 0,1 - 1 - 3 µg/ml, nach BLISS et al (1951) 0,3 µg/ml und LINZENMEIER (1961) 0,75-1,5 µg/ml.

KAGAN et al (1951) verglichen die MHK von Polymyxin B gegen 167 gramnegative Keimstämmen von kranken Kindern mit der MHK von Streptomycin. Die MHK für *E. coli* lag bei Polymyxin B unter 0,19 µg/ml und bei Streptomycin bei über 25,1 µg/ml.

Von 592 gramnegativen Bakterienstämmen (*E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*) waren alle gegen Polymyxin B empfindlich. Außer bei 10 Stämmen lag die MHK unter 2,0 µg/ml. 75% der Stämme wurden bei einer Konzentration unter 1,0 µg/ml gehemmt (ZIV, 1980 a).

Bei den MHK-Werten von Polymyxin B gegen, aus dem Sekret akuter Mastitiden isolierten E. coli ergab sich ein ähnliches Bild.

SØGAARD (1982 b) bestimmte die Antibiotika-Empfindlichkeit von 131 E. coli-Stämmen. 96,9% dieser Stämme wurden bei einer Polymyxin B-Konzentration von 2 µg/ml gehemmt. Der durchschnittliche MHK-Wert lag bei 1,43 µg/ml (1,06 µg/ml für Colistin).

Nach BERCHTOLD (1984) beträgt die obere Grenze der minimalen Hemmkonzentration von Polymyxin B gegen E coli etwa 3 µg/ml.

SCHIFFERLI et al (1984) untersuchten 501 E. coli-Stämme, die in verschiedenen veterinär-bakteriologischen Laboratorien in der Schweiz gesammelt wurden. Sie ermittelten für Polymyxin B gegen E. coli einen durchschnittlichen MHK-Wert von 1,53 µg/ml; der häufigste Wert betrug 1 µg/ml, der höchste 3,07 µg/ml.

GEDEK (1984) bestimmte die MHK von 7 Antibiotika bei 307 Laktose-positiven Enterobacteriaceae aus klinischen und subklinischen Mastitisfällen vom Rind. 77,5% der Stämme wurden bei einer MHK von 16 IE/ml Polymyxin B gehemmt; 8,1% erst bei Konzentrationen über 32 IE/ml. Bei den E. coli-Isolaten (n=243) hatten 86,0% eine MHK von 16 IE/ml (entspricht ca. 2 µg/ml). Bei einer Konzentration von 32 IE/ml waren alle Stämme empfindlich.

SCHNEEMEIER (1985) untersuchte 122, aus Milchproben von akuten Euterentzündungen isolierte E. coli. Die MHK von Polymyxin B gegen E. coli lag bei 1,0 µg/ml. In einem Bereich von 0,25 µg/ml bis 32 µg/ml waren alle Stämme empfindlich.

2.1.6. Pharmakokinetik

Bei oraler Verabreichung findet eine Resorption der Polymyxine nicht statt (WALTER und HEILMEYER, 1975).

2.1.6.1. Pharmakokinetik nach parenteraler Applikation

Die Polymyxine verteilen sich schlecht im Gewebe und werden zu ca. 60% innerhalb 3-4 Tagen über die Niere ausgeschieden (FORTH, 1983).

Sie weisen ein nur sehr begrenztes Diffusionsvermögen in die Gewebe und Körperflüssigkeiten auf. Jede physiologische oder krankheitsbedingte Diffusionsbarriere stellt ein beträchtliches Verteilungshindernis dar. Die Polymyxine werden nicht oder nur in minimalen Mengen mit der Galle ausgeschieden. Die renale Ausscheidung setzt ca. 12 Stunden nach der Applikation ein. Nach der i.m.-Gabe werden Blutspiegelmaxima nach 1-2 Stunden erreicht. Nach der i.v.-Gabe liegen die Serumspitzenkonzentrationen etwa doppelt so hoch wie nach gleichdosierter i.m.-Gabe (WALTER und HEILMEYER, 1975).

Polymyxin B und Colistin zeigen ein sehr ähnliches pharmakokinetisches Verhalten im Serum, Harn und Gewebe. Die Gewebsbindung ist der Hauptfaktor bei der Verteilungs- und Eliminationskinetik der Polymyxine. Weniger als 65% der verabreichten Dosis wurden innerhalb 48 Stunden nach der Applikation im Urin gemessen. 24 Stunden nach der Behandlung waren über 50% der Dosis im Gewebe gebunden. Den prozentual höchsten Anteil wies die Skelettmuskulatur auf (ZIV et al, 1982 a).

Die wiederholte Applikation verursacht keine Kumulation im Serum, wird aber von sehr hohen und zunehmenden Konzentrationen in den Geweben begleitet. Sobald die Gewebe, speziell die Niere, gesättigt sind, wirken die Polymyxine toxisch (CRAIG und KUNIN, 1976).

Die Bindung der Polymyxine an Niere, Lunge und Leber ist nur schwer reversibel (ZIV, 1980 b).

Bei laktierenden Schafen mit gesundem Euter war die Diffusion von Polymyxin B nach i.m.-Injektion aus dem Blut in die Milch sehr gering. Bei an akuter Mastitis erkrankten Schafen wurden jedoch Polymyxin B - Konzentrationen über 5,0 µg/ml innerhalb 8 Stunden nach einer Behandlung mit 10 mg/kg KGW beobachtet (ZIV und SULMAN, 1973).

2.1.6.2. Pharmakokinetik nach intramammärer Applikation

Über die Ausscheidungsrate und Rückstände von Polymyxin B in der Milch nach intramammärer Instillation liegen nur wenige Veröffentlichungen vor.

ZIV und SCHULTZE (1982 b) befaßten sich mit der Verteilungs- und Eliminationskinetik von Polymyxin B nach der intrazisternalen Verabreichung in gesunde und entzündete Euterviertel. Sie behandelten gesunde, chronisch mit *Staphylococcus aureus* oder *Streptococcus dysgalactiae* entzündete und akut entzündete, mit *E. coli*-Endotoxin infizierte Euterviertel mit 1-2 Mio IE Polymyxin B.

Sie entnahmen Milchproben sowohl aus den behandelten als auch unbehandelten Vierteln, Blutproben aus der V. jugularis und V. subcutanea abdominalis und Harnproben.

Polymyxin B wurde aus den gesunden und chronisch entzündeten Vierteln nicht absorbiert. Über 90% der verabreichten Dosis konnten in der Milch innerhalb 24 Stunden nach der Behandlung, Rückstände bis zur 9. Melkzeit nachgewiesen werden.

Bei einer Dosis von 1 Mio IE lagen die Konzentrationen in der Milch nach 12 Stunden zwischen 200 und 550 IE/ml. Die Polymyxin B-Konzentration nahm mit einer Halbwertszeit von annähernd 12 Stunden exponentiell ab. Die Gesamtausscheidungen betrugen zur 1., 2. und 3. Melkzeit $78 \pm 9,6\%$, $94 \pm 10\%$ und $96 \pm 5,8\%$.

Eine klare Dosis - Konzentrationsbeziehung wurde zwischen der verabreichten Dosierung und den Konzentrationen in der Milch 12 Stunden nach der Behandlung gesehen. Bei Antibiotika, die sich im Euter gut verteilen und die rasch absorbiert werden, ist ein solches direktes Dosis-Konzentrations-Verhältnis nicht zu finden (NOUWS und ZIV, 1981).

Die Konzentrationen in der Milch akut entzündeter Viertel waren deutlich niedriger; 51-55% der infundierten Dosis wurden innerhalb 24 Stunden in der Milch wiedergefunden. Außerdem wurde Polymyxin B in unbehandelten Vierteln nach 6-8 Stunden in einer Konzentration von 5-68 IE/ml wiederentdeckt. Im Blut aus der V. subcutanea abdom. fanden sich Polymyxin B -Konzentrationen nach 8 Stunden mit 10 IE/ml und Rückstände bis zu 24 Stunden nach der Behandlung.

Im Harn der Tiere mit gesunden Vierteln wurde kein Polymyxin B nachgewiesen. Meßbare Konzentrationen von Polymyxin B (teilweise über 100 IE/ml) konnten im Harn der Kühe festgestellt werden, denen Polymyxin B und Endotoxin appliziert worden war.

Ein Vergleich der Ausscheidungsraten von gesunden (über 90%) mit entzündeten Vierteln (51-55%) zeigt, daß ca. 40% der verabreichten Dosierungen bei akut entzündeten Vierteln absorbiert wurden.

Die pharmakokinetischen Eigenschaften des Polymyxin B im gesunden Euter können möglicherweise durch die physikalisch-chemischen Charakteristika des Wirkstoffes erklärt werden. Polymyxin B ist eine schwache polare Base mit geringen fettlöslichen Eigenschaften, die neben dem relativ großen Molekulargewicht (ca. 1500) mit dazu beitragen, daß Polymyxin B biologische Membranen - wie z.B. die Blut-Euterschranke - nur im begrenzten Maße überwinden kann (ZIV und SULMAN, 1975).

In vergleichbaren Untersuchungen an mehr als 30 Antibiotika wurde festgestellt, daß Polymyxin B und Colistin am langsamsten absorbiert werden. Polymyxin B hat eine große Affinität zu verschiedenen Organen und Geweben einschließlich des Euters (GARROD et al, 1978). Diese Eigenschaft ist als Ursache für die lange Verweildauer von Rückständen des Wirkstoffes in der Milch anzusehen (ZIV, 1980 b).

Durch grampositive euterpathogene Erreger verursachte chronische und subklinische Mastitiden gehen mit einer Schädigung des Drüsenepithels einher (SCHALM et al, 1971). Derartige chronische Euterentzündungen führen jedoch nicht zu einer Zerstörung der Blut-Euterschranke und damit zu einer Penetration von Polymyxin B in den Blutkreislauf, da der Wirkstoff weder im Blut noch im Harn der an chronischen Mastitiden erkrankten Kühe zu finden war. Dagegen wurde die Integrität dieser biologischen Barriere durch das E. coli-Endotoxin so erheblich geschädigt, daß Polymyxin B im venösen Blut, in den nicht behandelten Vierteln und auch im Harn identifiziert werden konnte (ZIV und SCHULTZE, 1982 b).

SIDDIQUE et al (1965) und ARCHIMBAULT et al (1979) gelangten zu ähnlichen Ergebnissen:

SIDDIQUE et al behandelten gesunde Euterviertel 3 mal im Abstand von 12 Stunden mit jeweils 50.000 IE Polymyxin B. Nachgewiesen wurde Polymyxin B bis zu 8 Stunden nach der Gabe nur in den behandelten Vierteln in einer Konzentration von 21,6-72,0 IE/ml nach 12 Stunden. In den unbehandelten Vierteln wurden keine Rückstände entdeckt.

ARCHIMBAULT et al führten in ihrer Untersuchung über Antibiotika-Milchkonzentration und Elimination nach intramammärer Verabreichung auch Versuche mit Colistin durch. Gesunde Euterviertel wurden 3, 4 und 8 mal im Abstand von 12 Stunden mit 2 Mio IE Colistin behandelt. Colistin konnte nur in den behandelten Vierteln wiedergefunden werden.

2.1.7. Nebenwirkungen

Neurotoxische Nebenwirkungen wie Gleichgewichtsstörungen, Sensibilitätsstörungen der Haut und Ataxien werden nur beim Menschen beschrieben (BRANDER und PUGH, 1977).

Im Gegensatz dazu berichten ZIV und SULMAN (1973) von einem Schaf mit akuter Mastitis, das kurz nach der Behandlung mit einer Dosis von 10 mg/kg KGW unter deutlichen neurotoxischen Zeichen starb.

Nephrotoxische Symptome wie Albuminurie, Nierenversagen und Haematurie wurden bei Tieren ebenso beobachtet wie eine Harnstoffzunahme im Blut. Ab einer Dosierung von 2,5 mg/kg KGW kann beim Hund ein akutes Nierenversagen hervorgerufen werden (BRANDER und PUGH, 1977).

2.1.8. Indikation und Dosierung bei akuten Coli-Mastitiden

Aufgrund der in vitro erhaltenen Ergebnisse sieht SØGAARD (1982 b) in Polymyxin B und Colistin die wirksamsten Antibiotika bei der Behandlung von Coli-Mastitiden, nicht nur wegen ihrer Wirksamkeit gegenüber E. coli, sondern auch wegen ihrer endotoxinneutralisierenden Wirkung.

SCHIFFERLI et al (1984) schlagen Polymyxin B wegen niederer MHK-Werte und fehlender Resistenzen als Mittel der Wahl zur Behandlung von Coli-Mastitiden vor.

GRUNERT und WEIGT (1984) empfehlen zur Behandlung eine Dosierung von 3-5 Mio IE Polymyxin B bzw. Colistin.

Eine Dosierung von 1 Mio IE/Viertel bewirkt einen Rückgang der Schwellung des Euters und führt zu einer klinischen Besserung, wenn die Behandlung im Anfangsstadium einer akuten Coli-Mastitis begonnen wurde (WEIGT, 1979).

ZIV und SCHULTZE (1983) untersuchten die Wirkung von 1,6 Mio IE Polymyxin B nach intramammärer Gabe auf den klinisch-pathologischen Verlauf einer, durch 1 mg/Viertel E. coli-Endotoxin ausgelösten akuten Mastitis. Eine vorherige oder gleichzeitige Applikation von Polymyxin B mit dem Endotoxin verminderte die leukozytäre Antwort auf die Endotoxin-Gabe. Sie verhinderte eine größere Abnahme der Lactat - Dehydrogenase und Zn - Konzentration im Plasma. Nur teilweise wurde der Rückgang der Entzündungserscheinungen am Euter beeinflusst. Keinen Effekt hatte die Polymyxin B-Gabe auf die Leukozytenzahl in der Milch.

BERCHTOLD (1982) empfiehlt bei der Behandlung akuter Mastitiden mit unbekanntem Erreger eine Initialbehandlung mit einer Kombination von Penicillin und Neomycin. Wird innerhalb 24 Stunden eine Therapieresistenz erkennbar oder zeigt das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung eine Infektion mit E. coli, schlägt er Polymyxin B als Mittel der Wahl in einer Dosierung von 2-5 Mio IE Polymyxin B bzw. 100 bis 200 mg Colistin mit einer zweimaligen Nachbehandlung im Abstand von 12 Stunden vor.

BERCHTOLD (1984) hält jedoch die Angabe einer exakten Dosierung für recht problematisch, da bei Tieren und insbesondere bei akuten Mastitiden keine Ergebnisse von systematischen Untersuchungen vorliegen. Hinzu kommt die Schwierigkeit, daß verschiedene Salze von Polymyxin B und E verwendet werden, daß der Reinheitsgrad der Spezialitäten recht unterschiedlich ist und somit auch die Umrechnung von Einheiten in mg und umgekehrt oft unklar bleibt.

Eine Grundlage für die von ihm empfohlenen Dosierungen bietet die für die meisten Antibiotika gültige Dosierung von einem Zehntel der parenteralen Dosis bei lokaler Verabreichung in das Euter. Außerdem sollte die Initialdosis etwa das sechsfache der oberen Grenze der MHK (ca. 3 µg/ml) betragen und auf eine maximale Milchmenge von 5 Litern pro Euterviertel hochgerechnet werden.

HAMMAN (1984) kontaminierte die Zitzen von eutergesunden Kühen mit einer E. coli-Suspension. Beim Auftreten von klinischen Symptomen wie Flocken in der Milch, Störung des Allgemeinbefindens etc. wurden die Tiere intramammar mit Polymyxin B behandelt. Die erste Behandlung wurde mit 2 Mio IE und die beiden nachfolgenden Behandlungen im Abstand von 24 Stunden mit 1 Mio IE pro Euterviertel vorgenommen. Schon einen Tag nach der 1. Applikation von 2 Mio IE Polymyxin B stellte er eine deutliche Reduktion des zytologischen Niveaus fest. Eine Woche nach Therapiebeginn war noch ein durchschnittlicher Milchverlust von 12% festzustellen, der jedoch nach Ablauf von 2 Wochen post applicationem im Durchschnitt nur noch mit 5% in Bezug auf den Anamnesewert anzugeben war.

Außerdem wirkt Polymyxin B-Sulfat hervorragend bei durch Pseudomonas aeruginosa induzierten Mastitiden, besonders in einer Kombination mit Oxytetracyclin (BRANDER und PUGH, 1977).

In sieben in der DELTA-Liste (Stand Juli 1982) aufgeführten Fertiginjektoren sind Polymyxin B-Dosierungen von ca. 8.000 bis 500.000 IE enthalten. In der neuesten DELTA-Liste (Juni 1984) sind noch 3 Präparate in einer Dosierung von 8.000 bis 300.000 IE aufgeführt. Colistin ist in 4 Präparaten in einer Dosierung von 1 Mio bis 2,5 Mio IE enthalten. Ende 1984 wurde ein weiteres Präparat mit 1 Mio IE Polymyxin B auf den Markt gebracht.

2.2. Darstellung von Wirkstoffkonzentrationen in der Milch als Leitlinie für die Therapie

Nach GEDEK (1983) kann anhand der Darstellung von Wirkstoffkonzentrationen in der Milch nach erfolgter Euterbehandlung die Höhe des ermittelten Antibiotika - Spiegels über den MHK-Werten des nachgewiesenen oder vermuteten euterpathogenen Keimes festgestellt werden. Für die Therapie ist ein deutlich über den jeweiligen MHK-Werten empfindlicher Erreger liegender Wirkstoffspiegel, "therapeutischer Spiegel", in Höhe des zwei- bis vierfachen MHK-Wertes zu fordern. Aus der Aufzeichnung der Wirkstoffkonzentration in der Milch ergibt sich die Dauer des "therapeutischen Spiegels" und demnach der Zeitpunkt der Nachbehandlung.

Aus der Darstellung der Eliminationskinetik kann auch das Verhältnis der Dauer des "therapeutischen" zum "sub-therapeutischen Spiegel" erkannt werden. Ein unverhältnismäßig lange unterhalb der entsprechenden MHK-Werte liegender Milchspiegel ist wegen der daraus resultierenden langen Wartezeiten unerwünscht.

Einschränkend gibt GEDEK (1983) zu bedenken, daß die Aktivitäten der Antibiotika in vivo durch folgende Wirtsfaktoren herabgesetzt werden können: Bindung an Serum- oder Gewebsbestandteile, Antagonismus örtlicher Gewebskomponenten, pH-Wert des Infektherdes und Hemmnisse für den Zugang von Wirkstoffen an die Stellen der Bakteriansiedlungen. Deshalb kann der am gesunden Euter ermittelte Wirkstoffspiegel der Milch nur als Anhalt für den Wirkstoffspiegel am Ort der gewünschten Wirkung verwendet werden.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

3.1.1. Präparat

In den Versuchen wurde ein, zur klinischen Prüfung bestimmtes Präparat der Fa. PFIZER, Karlsruhe, verwendet. Dieses Präparat enthielt 10,5 mg Polymyxin B-Sulfat pro ml in wässriger Lösung mit einer Aktivität von 100.000 IE pro ml.

Das verwendete Präparat erhält den Umrechnungsfaktor 1 IE = 0,105 µg Polymyxin B.

WALTER und HEILMEYER (1975) geben für die Umrechnung von IE in µg, vom internationalen Standardpräparat (WHO) ausgehend, den Umrechnungsfaktor 1 IE = 0,127 µg an.

Da die Standardaktivität veränderlich ist und gemeinhin nicht mit mg gerechnet wird, kann die von WALTER und HEILMEYER angegebene Zahl nicht ohne weiteres der Aktivität des obengenannten Präparates gleichgesetzt werden. Es ergibt sich somit keine feste Korrelation zwischen den internationalen Einheiten und dem Gehalt eines Wirkstoffes in mg (Fa. PFIZER, 1984).

3.1.2. Untersuchte Tiere

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 32 klinikeigenen Kühen vorgenommen. Die Kühe waren ausnahmslos Kalbinnen am Anfang oder in der Mitte der Laktationsperiode. Die Milchleistungen lagen zwischen 7,6 und 16,8 kg pro Tag. Alle Tiere gehörten der Rasse Deutsches Fleckvieh an.

3.2. Methode

3.2.1. Behandlung der Tiere

Die Milch der Kühe wurde bei Untersuchungsbeginn vor dem Abendmelken makroskopisch und mittels Schalm-Test untersucht. Die Tiere waren eutergesund und blieben während der Untersuchungen mastitisfrei.

Nach Entnahme einer Leerprobe aus jedem Viertel, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch unspezifische Hemmstoffe auszuschließen, wurden die Tiere gut ausgemolken und anschließend in das rechte Hinter- und linke Vorderviertel die jeweils zu testende Dosis an Polymyxin B instilliert.

Die Behandlungen wurden in 2 Untersuchungsreihen durchgeführt. Ausgehend von den in der Literatur angegebenen bzw. in Fertigpräparaten enthaltenen Polymyxin B-Dosierungen wurden in der 1. Untersuchungsreihe jeweils 4 Kühen 10.000, 50.000, 100.000, 500.000, 1 Mio, 1,5 Mio und 2 Mio IE in das rechte Hinter- und linke Vorderviertel verabreicht. Den Kühen, die 2 Mio IE erhielten, wurden 20 ml, den Kühen mit 1,5 Mio IE 15 ml des Prüfpräparates instilliert. Die Kühe mit einer Dosierung von 1 Mio IE pro Viertel erhielten 10 ml des Präparates verabreicht. Bei Dosierungen unter 1 Mio IE wurde das zu verabreichende Volumen mit sterilem Aqua dest auf 10 ml aufgefüllt.

Nach Auswertung dieser Untersuchungsreihen wurden nochmals 4 Kühe in gleicher Weise mit 100.000 IE pro Viertel behandelt, um eine größere Signifikanz der ermittelten Ergebnisse bei 100.000 IE/Viertel zu erreichen.

3.2.2. Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte zu jeder Melkzeit im Abstand von etwa 12 Stunden bis zur zehnten Melkzeit bei 2 Mio IE, bis zur achten Melkzeit bei 1,5 und 1 Mio IE und bis zur sechsten Melkzeit bei allen niedrigeren Dosierungen nach der Behandlung sowohl aus den behandelten als auch unbehandelten Vierteln. Bis zur weiteren Verwendung lagerten die Proben bei -20°C im Gefrierschrank.

Die behandelten Viertel wurden einzeln gemolken, um anhand der Milchmenge jedes Viertels die Gesamtausscheidung von Polymyxin B pro Viertel zu ermitteln.

3.2.3. Antibiotikumnachweis

Zur Bestimmung der Polymyxin B-Konzentration diente ein Lochtest auf einer einschichtigen Agarplatte. Auf plangeschliffenen Glasplatten wurden Plexiglasringe mit einem Innendurchmesser von 19 cm und einer Höhe von 2 cm aufgelegt. Vor dem Gießen wurden die Platten auf einen planparallelen Tisch gelegt, der mit einer Wasserwaage eingestellt worden war. Auf die von den Ringen begrenzte Fläche wurden 50 ml Agar, der den Testkeim in geeigneter Verdünnung enthielt, gegossen. Nach Erstarren des Agars wurden die Platten in einen Kühlraum bei $+10^{\circ}\text{C}$ gebracht und am gleichen oder folgenden Tag 12 Löcher in regelmäßigen Abständen ausgestanzt. Das Ausstanzen der Löcher erfolgte mit einem Metallrohr von 11 mm Innendurchmesser. Mit einer Drahtöse wurde der Agar aus den Löchern herausgehoben. In jedes Loch wurde 0,1 ml einer Probe hineinpipettiert und jede Probe dreifach getestet. Die Durchmesser der um die Löcher entstandenen Hemmhöfe der Testkeime wurden mittels einer Schublehre gemessen.

Aufstellen der Eichkurve:

Die Aufstellung der Eichkurve erfolgte mit bekannten Konzentrationen von Polymyxin B in Milch. Dabei wurde 1 ml des Prüfpräparates zu 1 ml Milch zugegeben und dann in Zweier-Potenzen mit Milch verdünnt. Durch Auftragen der Hemmhofdurchmesser auf semilogarithmisches Millimeterpapier gegen die zugehörige Polymyxin B-Konzentration ließ sich die Eichkurve als Gerade darstellen.

Die Durchmesser der Hemmhöfe ergaben, in die Gerade eingesetzt, die Konzentrationen an Polymyxin B pro ml der getesteten Milchprobe. Um Unterschiede zwischen den einzelnen Platten und Versuchsreihen auszugleichen, wurden die Proben auf jeder Platte mit 2 Bezugsstandardwerten gekoppelt, deren Höhe nach der zu erwartenden Konzentration gewählt wurde.

3.2.3.1. *Bordetella bronchiseptica* als Testkeim

Zum Nachweis von Polymyxin B wird *Bordetella bronchiseptica* empfohlen. ZIV und SCHULTZE (1982 b) benutzten für ihre Versuche den bereits von SIDDIQUE et al (1965) getesteten Stamm *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617 als Testkeim.

Als Grundlage für die Konzentrationsbestimmungen mit *Bord. bronchiseptica* dienten die Laborerfahrungen des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V., Grub, der auch den Teststamm zur Verfügung stellte.

Der Keim wurde auf Blutplatten gezüchtet und wöchentlich auf neue Platten überimpft. Am Tag vor einer neuen Auswertungsreihe wurde etwas Material von der Platte in 4-5 ml Nährbouillon gebracht und über Nacht bebrütet. 0,1 ml der beimpften Nährbouillon wurden in 300 ml des flüssigen, auf 50°C abgekühlten Agars (DIFCO-Antibiotic-Medium 10) eingemischt. Dabei waren die 50°C genau einzuhalten, da bei geringfügig höheren Temperaturen der Keim abstarb, bei tieferen Temperaturen Schwierigkeiten beim Ausgießen auftraten. Anschließend wurden die Platten gegossen und die Eichgerade erstellt.

Mit *Bordetella bronchiseptica* ließ sich eine Eichgerade mit einer Nachweisgrenze von 3 IE (= 0,315 µg) Polymyxin B in 1 ml Milch aufstellen.

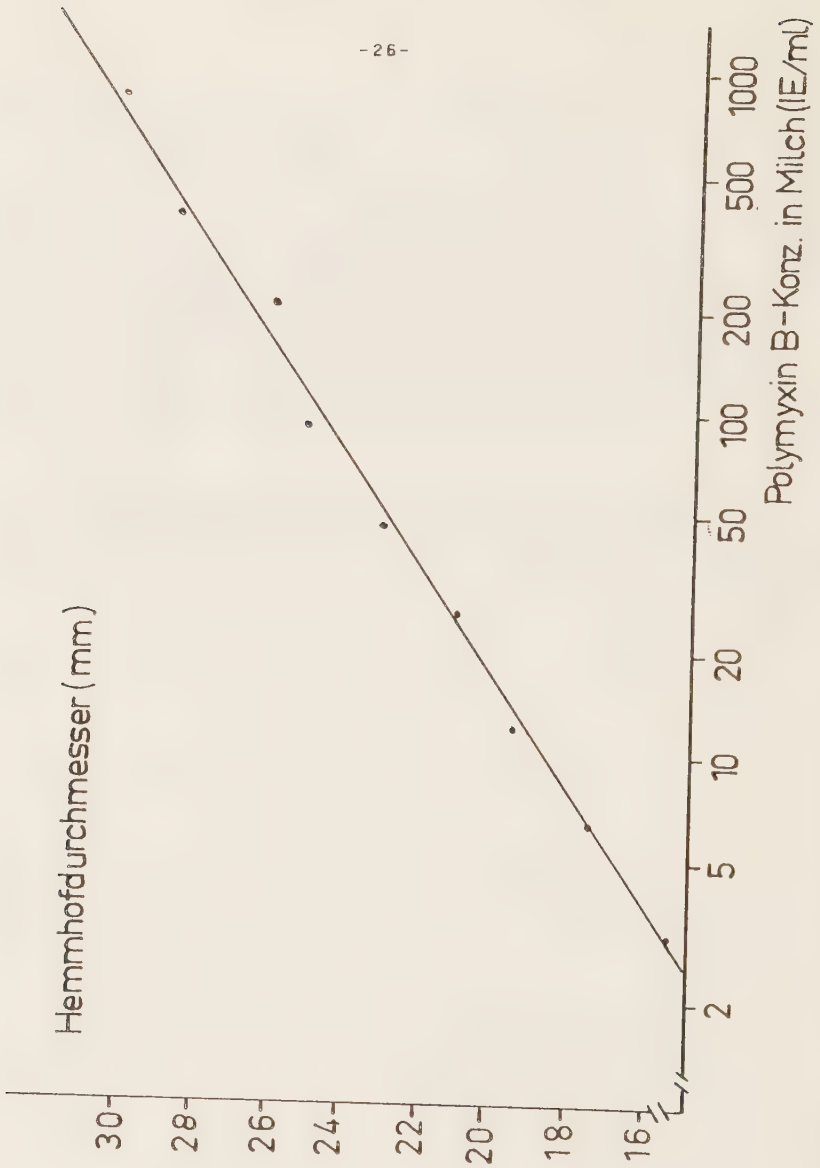


Abb. 1: Eichgerade für Polymyxin B bei Konzentrationen von
1 - 1.000 IE/ml

4. Ergebnisse

4.1. Versuch I

2.000.000 IE Polymyxin B

Die Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch lagen zur 1. Melkzeit (MZ) zwischen 700 und 1.800 IE/ml Milch. Dies entsprach einer durchschnittlichen Ausscheidungsrate von 76,5%. Zur 2. MZ waren 87,5% der verabreichten Dosis ausgeschieden. Meßbare Konzentrationen konnten bis zur 5. MZ nachgewiesen werden, Die Gesamtausscheidungsrate betrug dabei 94,4%. Spuren des Präparates wurden bis zur 8. MZ nach der Behandlung festgestellt (Abb. 2 und Tab. 1)

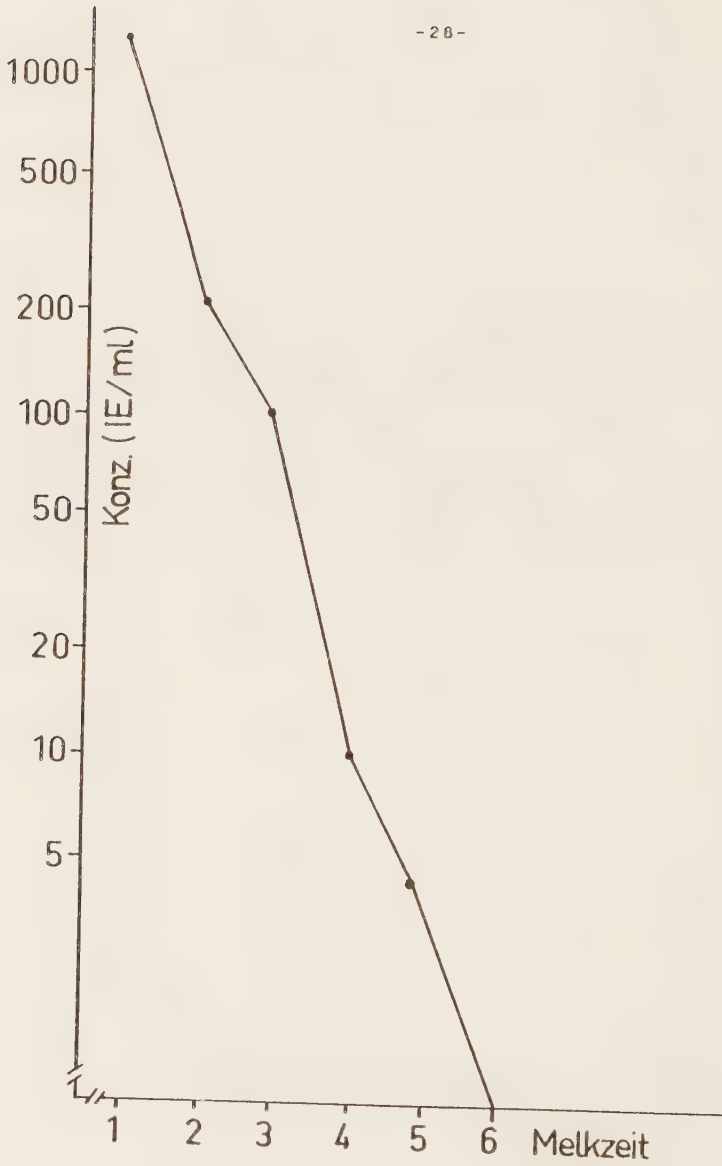


Abb.2: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach intramammärer Verabreichung von 2 Mio IE/Viertel
n = 8 Viertel

Tabelle 1: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 2 Mio. IE Polymyxin 8/Viertel
n = 8 Viertel

	1. MZ		2. MZ		3. MZ		4. MZ		5. MZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
Viertel Nr.	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	700	980.000	340	374.000	108	172.000	23	23.000	16	22.400	1.572.200
2	1.800	1.800.000	108	97.200	90	90.000	--	--	--	--	1.987.200
3	1.230	1.599.000	219	219.000	60	60.000	15	18.000	--	--	1.896.000
4	1.100	1.320.000	340	299.000	190	285.000	34	47.600	11	14.300	1.965.900
5	1.050	1.470.000	200	220.000	80	120.000	10	9.000	6	6.600	1.825.600
6	1.100	1.760.000	108	108.000	50	55.000	--	--	--	--	1.923.000
7	1.400	1.680.000	242	217.800	70	70.000	--	--	--	--	1.967.800
8	1.090	1.635.000	182	218.000	116	104.400	--	--	--	--	1.957.800
gesamt	$\bar{x}=1.184$ $s=317$	$\bar{x}=1.530.500$	$\bar{x}=217$ $s=89,6$	$\bar{x}=219.175$	$\bar{x}=95,5$ $s=44$	$\bar{x}=120.350$	$\bar{x}=10,25$ $s=12,9$	$\bar{x}=12.200$	$\bar{x}=4,1$ $s=6,3$	$\bar{x}=5.412,5$	$\bar{x}=1.887.638$

1.500.000 IE Polymyxin B

- Milchkonzentrationen zur 1. MZ: zwischen 530 und 700 IE/ml
- Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 1. MZ: 63,0%
- Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 2. MZ: 84,8%
- Meßbare Konzentrationen bis zur 5. MZ vorhanden.
- Gesamtausscheidung nach 5 MZ: 88,2%
- Spuren des Präparates bis zur 7. MZ feststellbar.
(Abb.3 und Tab.2)

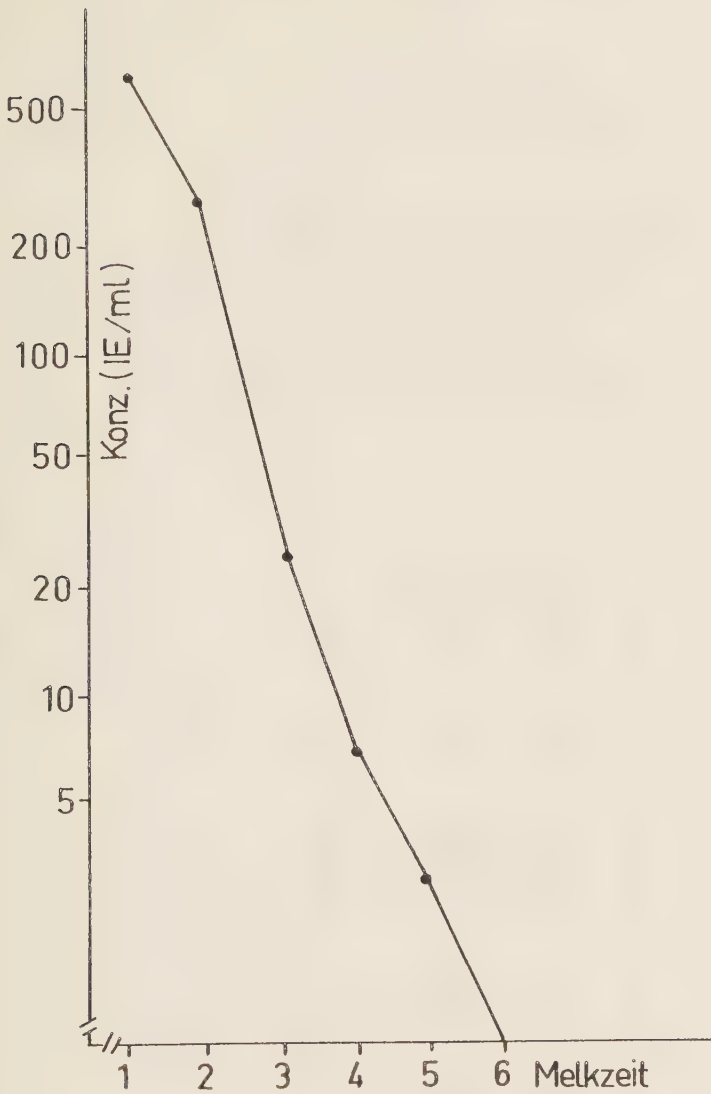


Abb.3: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach
intramammärer Verabreichung von 1,5 Mio IE/Viertel
n = 8 Viertel

Tabelle 2: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 1,5 Mio. IE Polymyxin B/Viertel
n = 8 Viertel

Viertel Nr.	1. MZ		2. MZ		3. MZ		4. MZ		5. MZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	550	660.000	490	490.000	108	140.400	24	28.800	11	13.200	1.332.400
2	700	1.050.000	34	40.800	24	33.600	--	--	--	--	1.124.400
3	530	848.000	490	588.000	--	--	--	--	--	--	1.446.640
4	610	854.000	300	420.000	18	21.600	20	32.600	--	10.640	1.327.600
5	700	1.260.000	34	51.000	40	48.000	--	--	--	--	1.359.000
6	650	845.000	250	375.000	20	28.000	8	8.000	--	--	1.256.000
7	580	986.000	180	234.000	15	22.500	7	8.400	3	3.300	1.254.200
8	660	1.056.000	244	414.800	8	9.600	--	--	--	--	1.480.400
Gesamt	$\bar{x}=623$ $s=65,4$	$\bar{x}=944.875$	$\bar{x}=253$ $s=175,6$	$\bar{x}=326.700$	$\bar{x}=29,1$ $s=33,9$	$\bar{x}=37.963$	$\bar{x}=7,4$ $s=9,7$	$\bar{x}=9.650$	$\bar{x}=2,7$ $s=4,3$	$\bar{x}=3.393$	$\bar{x}=1.322.580$

1.000.000 IE Polymyxin B

- Milchkonzentrationen zur 1. MZ: zwischen 350 und 500 IE/ml
 - Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 1. MZ: 63,6%
 - Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 2. MZ: 82,4%
 - Meßbare Konzentrationen bis zur 5. MZ.
 - Gesamtausscheidung nach 5 MZ: 89%
 - Spuren des Präparates bis zur 6. MZ nachweisbar.
- (Abb.4 und Tab.3)

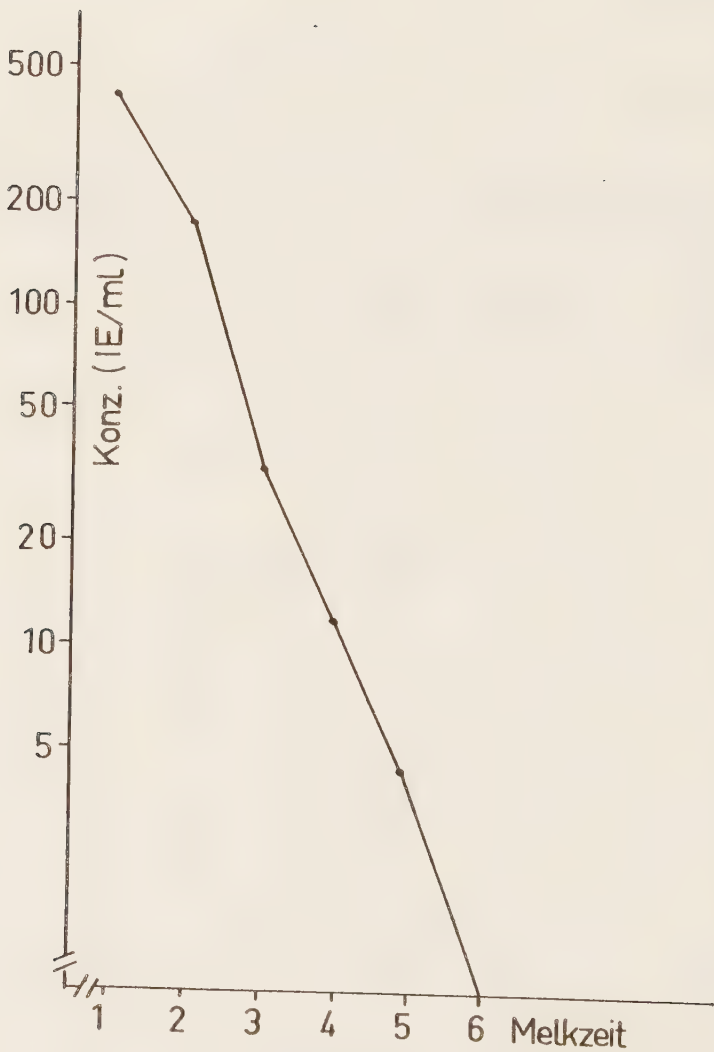


Abb. 4: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach intramammärer Verabreichung von 1 Mio IE/Viertel
n=8 Viertel

Tabelle 3: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 1 Mio. IE Polymyxin B/Viertel
n = 8 Viertel

Viertel Nr.	1. MZ		2. MZ		3. MZ		4. MZ		5. MZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	390	507.000	300	300.000	34	54.400	19	17.100	7,6	11.400	889.900
2	400	480.000	160	192.000	108	140.400	15,5	26.350	16	20.800	859.550
3	350	565.000	150	240.000	13,5	29.700	7,6	11.400	--	--	946.100
4	440	792.000	60	90.000	11	19.800	4	7.200	--	--	909.000
5	550	770.000	230	164.000	29	34.800	13,5	9.450	--	--	998.250
6	500	600.000	300	240.000	19,5	29.250	16	16.000	4,3	3.440	886.690
7	420	588.000	130	104.000	33	52.800	11	9.900	4,3	4.730	759.430
8	380	584.000	130	156.000	11	20.900	4	4.320	--	--	855.220
gesamt	$\bar{x}=428,8$ $s=66,4$	$\bar{x}=635.750$	$\bar{x}=182,5$ $s=86,1$	$\bar{x}=188.250$	$\bar{x}=32,3$ $s=32$	$\bar{x}=47.756$	$\bar{x}=11,32$ $s=5,65$	$\bar{x}=12.715$	$\bar{x}=4$ $s=5,6$	$\bar{x}=5.046$	$\bar{x}=869.517$

500.000 IE Polymyxin B

- Milchkonzentrationen zur 1. MZ: zwischen 170 und 230 IE/ml
 - Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 1. MZ: 67,1%
 - Durchschnittliche Gesamtausscheidung zur 2. MZ: 86,7%
 - Meßbare Konzentrationen bis zur 3. MZ.
 - Gesamtausscheidung nach 3 MZ: 89,4%
 - Spuren bis zur 4. MZ nachweisbar.
- (Abb.5 und Tab.4)

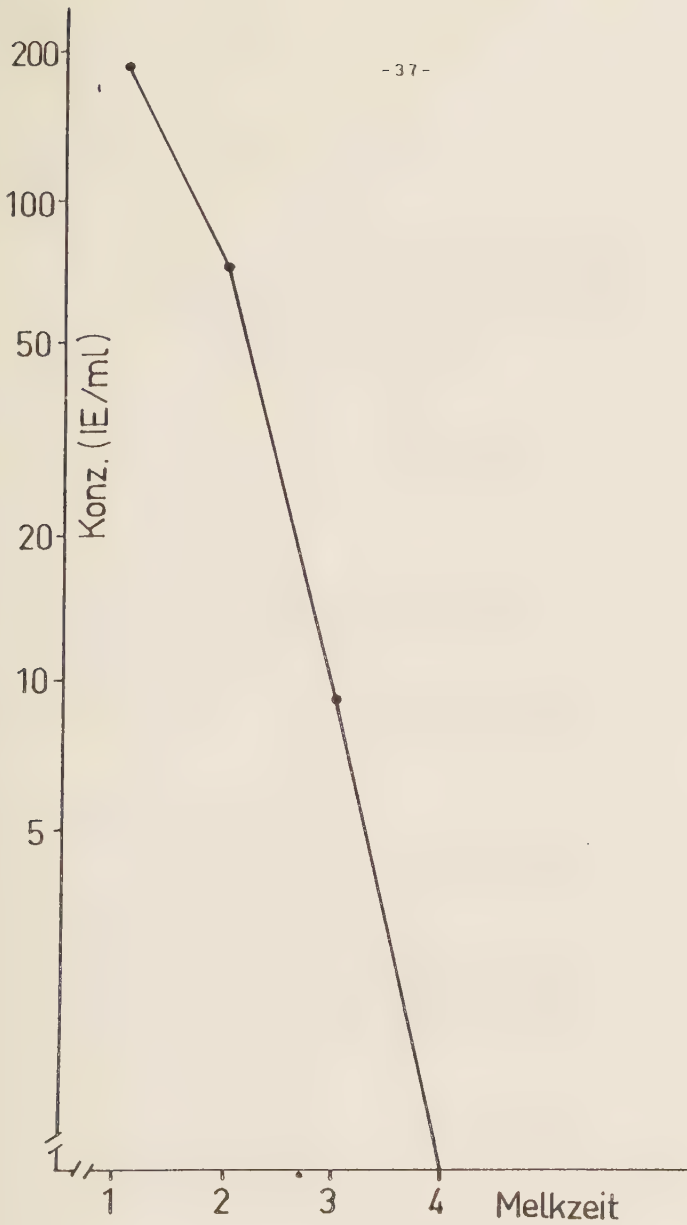


Abb.5: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach intramammärer Verabreichung von 500.000 IE/Viertel
n=8 Viertel

Tabelle 4: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 500.000 IE Polymyxin B/Viertel
n = 8 Viertel

Viertel Nr.	1. MZ		2. MZ		3. MZ		Gesamtaus- sch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Vierte	IE/ml	IE/Viertel	
1	170	340.000	109	119.900	7,6	13.680	473.580
2	230	414.000	34	40.800	--	--	454.800
3	180	288.000	150	180.000	16	25.600	493.600
4	200	360.000	24	48.000	16	22.400	430.400
5	195	331.500	90	153.000	--	--	484.500
6	220	330.000	55	71.500	18	21.600	423.100
7	205	328.000	50	55.000	11	17.600	400.600
8	172	295.400	62	117.800	5	5.500	415.700
Gesamt	$\bar{x}$ = 196,5 s = 21,9	$\bar{x}$ = 335.487	$\bar{x}$ = 71,8 s = 42	$\bar{x}$ = 98.250	$\bar{x}$ = 9,2 s = 7,2	$\bar{x}$ = 13.298	$\bar{x}$ = 447.035

100.000 IE Polymyxin B

- Milchkonzentrationen zur 1. MZ: zwischen 38 und 60 IE/ml
- Durchschnittliche Gesamtausscheidungsrate zur 1. MZ: 80%
- Meßbare Konzentrationen nur bis zur 2. MZ.
- Gesamtausscheidung nach 2 MZ: 90,6%
- Spuren bis zur 3. MZ nachweisbar (Tab.5).

50.000 IE Polymyxin B

- Milchkonzentrationen zur 1. MZ: 20 bis 30 IE/ml
- Durchschnittliche Gesamtausscheidung nach 1 MZ: 78,4%
- Gesamtausscheidung: 95,1%
- Spuren bis zur 3. MZ nachweisbar (Abb.6 und Tab.6).

10.000 IE Polymyxin B

Bei einer Dosierung von 10.000 IE pro Viertel konnten meßbare Konzentrationen nur noch nach 1 MZ in einer Konzentration von 4 bis 7 IE/ml festgestellt werden. Dies entsprach einer Gesamtausscheidung von 82,9%. Spuren von Polymyxin B waren bis zur 2. MZ nachzuweisen (Abb.6 und Tab.7).

Tabelle 5: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 100.000 IE Polymyxin B/V
n = 8 Viertel

Viertel Nr.	1. HZ		2. HZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	40	96.000	3	3.000	99.000
2	40	80.000	15	15.000	95.000
3	50	50.000	34	17.000	67.000
4	60	78.000	4	3.200	81.200
5	50	90.000	--	--	90.000
6	42	71.400	35	28.000	99.400
7	50	90.000	6,5	8.450	98.450
8	38	87.400	6,5	7.800	95.200
gesamt	$\bar{x}=47,3$ $s=7,1$	$\bar{x}=80.350$	$\bar{x}=13$ $s=14$	$\bar{x}=10.306$	$\bar{x}=90.656$

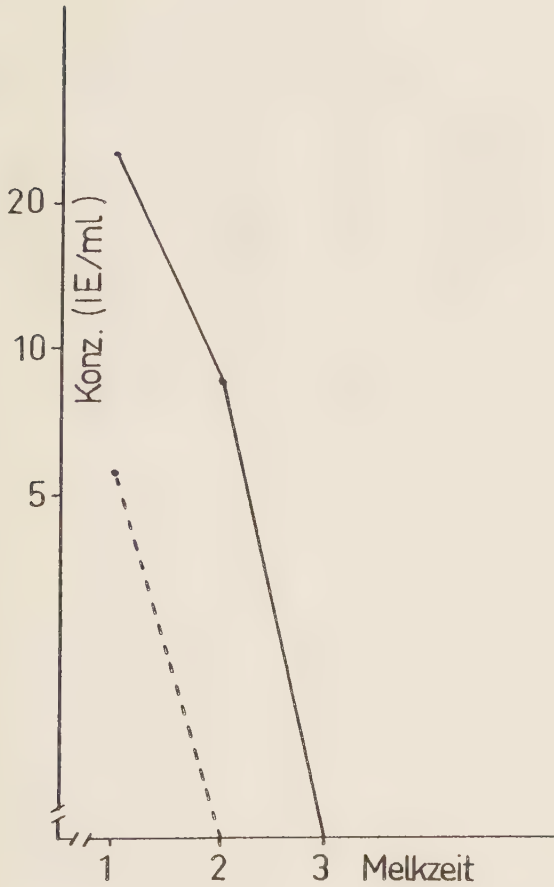


Abb.6: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach intramammärer Verabreichung von 50.000 bzw. 10.000 IE/Viertel
---- = 10.000 IE; — = 50.000 IE; n= jeweils 8 Viertel

Tabelle 6: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 50.000 IE Polymyxin B/Vi
n = 8 Viertel

Viertel Nr.	1. HZ		2. HZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	25	42.500	4	6.400	48.900
2	30	42.000	5	7.500	49.500
3	24	43.200	6,6	5.200	48.480
4	24	38.400	11	5.500	43.900
5	30	42.000	10	7.000	49.000
6	24	36.000	13	13.000	49.000
7	25	37.500	5,2	5.720	43.220
8	20	32.000	15	16.500	48.500
gesamt	$\bar{x}=25,3$ $s=3,3$	$\bar{x}=39.200$	$\bar{x}=8,6$ $s=4,1$	$\bar{x}=8.363$	$\bar{x}=47.563$

Tabelle 7: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 10.000 IE Polymyxin B/Viertel
n = 8 Viertel

1. MZ

Viertel Nr.	IE/ml	IE/Viertel	Gesamtaussch. IE/Viertel
1	6	8.400	8.400
2	4	8.800	8.800
3	4,3	9.460	9.460
4	4,2	4.200	4.200
5	7	8.400	8.400
6	6	9.600	9.600
7	5	9.000	9.000
8	6	8.400	8.400
gesamt	$\bar{x}=5,3$ $s=1,1$	$\bar{x}=8.283$	$\bar{x}=8.283$

4.2. Versuch II

Es wurde nochmals das Ausscheidungsverhalten von Polymyxin B bei 8 weiteren Vierteln in einer Konzentration von 100.000 IE/Viertel getestet.

Die Gesamtausscheidung betrug nach 2 MZ 90,8%. Spuren waren wieder bis zur 3. MZ nachweisbar.

Die Resultate aus Versuch II und der Dosierung mit 100.000 IE Polymyxin B aus Versuch I: Die Konzentrationen in der Milch lagen zur 1. MZ zwischen 30 und 65 IE/ml; die durchschnittliche Konzentration zur 1. MZ betrug 46,2 IE/ml, die Gesamtausscheidung 90,7% (Abb.7 und Tab.8).

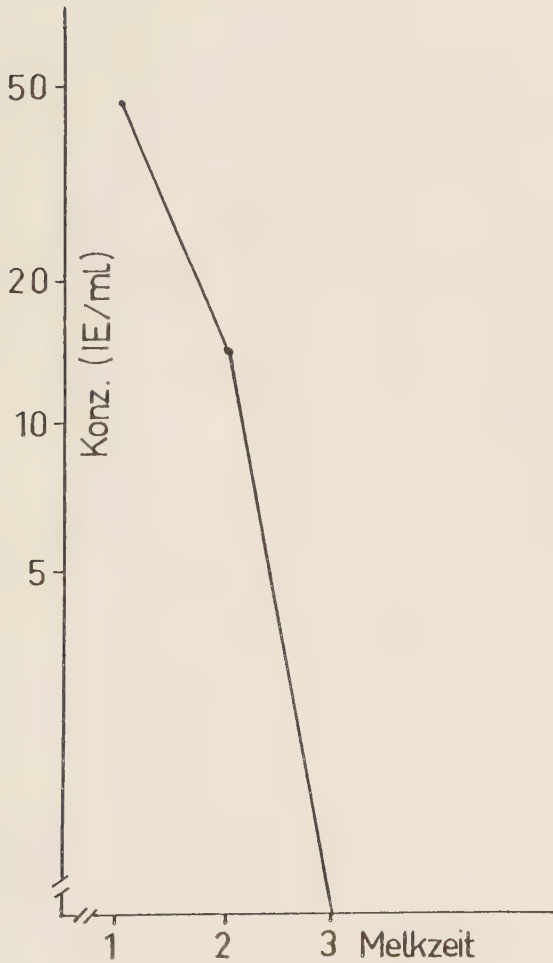


Abb.7: Konzentrationen von Polymyxin B in der Milch nach
intramammärer Verabreichung von 100.000 IE/Viertel
n=16 Viertel

Tabelle 8: Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch bei 100.000 IE Polymyxin B/Viertel
n = 16 Viertel (einschl. der Einzelwerte der 8 Viertel aus Versuch 1)

Viertel Nr.	1. HZ		2. HZ		Gesamtaussch. IE/Viertel
	IE/ml	IE/Viertel	IE/ml	IE/Viertel	
1	48	96.000	3	3.000	99.000
2	40	80.000	15	15.000	95.000
3	50	50.000	34	17.000	67.000
4	60	78.000	4	3.200	81.200
5	50	90.000	--	--	90.000
6	42	71.400	35	28.000	99.400
7	50	90.000	6,5	8.450	98.450
8	38	87.400	6,5	7.800	95.200
9	40	80.000	5	7.500	87.500
10	34	91.800	5	7.500	99.300
11	42	67.200	34	23.800	91.000
12	65	97.500	--	--	97.500
13	50	75.000	20	14.000	89.000
14	30	63.000	28	28.000	91.000
15	50	50.000	24	26.400	76.400
16	50	75.000	14	19.600	94.600
gesamt	$\bar{x}=46,2$ s= 9,0	$\bar{x}=77.644$	$\bar{x}=14,6$ s=12,8	$\bar{x}=13.078$	$\bar{x}=90.722$

4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse aus Versuch I und Versuch II

Zur 1. MZ waren im Durchschnitt 72,7% der verabreichten Dosis ausgeschieden. Insgesamt wurden durchschnittlich 90% der Ausgangsdosierungen in der Milch wiedergefunden. Die Ausscheidungshöhen und -dauer waren von der Ausgangskonzentration abhängig. Die Rückstandsdauer betrug bis zu 8 MZ nach der Behandlung mit 2 Mio IE Polymyxin B, sank bis auf 3 MZ bei 100.000 IE und 2 MZ bei 10.000 IE. Rückstände in unbehandelten Vierteln wurden nicht nachgewiesen (Tab.9).

5. Diskussion

Da Polymyxin B von verschiedenen Autoren als Mittel der Wahl zur Behandlung akuter Coli-Mastitiden empfohlen wird, in der Literatur jedoch kaum systematische Untersuchungen zur Polymyxin B-Dosierung vorliegen, lag es nahe, Versuche in dieser Richtung durchzuführen. Angeregt durch die ungewöhnlich stark voneinander abweichenden Dosierungsempfehlungen und den in Fertigpräparaten enthaltenen Dosierungen wurden die im Euter erreichbaren Konzentrationen an Polymyxin B, gemessen an der Höhe und Dauer der Elimination mit der Milch, bestimmt. Milchspiegelkurven von Polymyxin B für Dosierungen von 10.000 - 2 Mio IE/Viertel wurden erstellt.

5.1. Diskussion der Methode

Von SIDDIQUE et al (1965) wurde ein modifiziertes Lochplattenverfahren zum Nachweis von langsam diffundierenden Antibiotika (Neomycin, Streptomycin und Polymyxin) getestet. Es fehlen aber jegliche Hinweise zur Durchführung des Verfahrens und zum verwendeten Testkeim. ZIV und SCHULTZE (1982 b) benutzten das gleiche Verfahren, verwiesen jedoch statt einer Versuchsbeschreibung auf SIDDIQUE et al. Als Testkeim verwendeten sie *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617. Dieser Testkeim sowie die Arbeitsanweisungen zur Behandlung des Keimes wurden vom Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e.V., Grub, zur Verfügung gestellt.

Zur Bestimmung der Polymyxin B-Konzentrationen in der Milch wurde das seit Jahren als Routineverfahren für den Antibiotika-Nachweis an der Gynäkologischen Tierklinik München angewandte Agar-Diffusionsverfahren verwendet. *Bordetella bronchiseptica* reagiert auf Polymyxin B derart empfindlich, daß trotz des sehr begrenzten Diffusionsvermögens der Polymyxine (WALTER und HEILMEYER, 1975) große Hemmhöfe mit klaren Unterschieden der Hemmhofdurchmesser bei den verschiedenen Konzentrationen entstanden. Die Nachweisgrenze lag bei 0,3 µg/ml ($\approx$ 3 IE/ml). ZIV und SCHULTZE (1982 b) gaben als Nachweisgrenze von Polymyxin B in der Milch 1 - 2 IE/ml an. Nach WAGENSEIL (1966) gibt es eine Anzahl von Faktoren, die nicht in jeder Versuchsanordnung konstant gehalten werden können. Deshalb wurden die Hemmhofdurchmesser der Proben pro Platte mit den Hemmhofdurchmessern zweier Bezugsstandardwerte verglichen und die Ergebnisse in die Eichkurve interpoliert.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

Nur zwei Veröffentlichungen zur Polymyxin B-Ausscheidung nach intramammärer Gabe stehen derzeit zur Verfügung. Einzig ZIV und SCHULTZE (1982 b) haben sich intensiv mit diesem Thema befaßt, während SIDDIQUE et al (1965) die Polymyxin B-Ausscheidung nur in einer Reihe mit anderen Antibiotika untersuchten.

Polymyxin B wird aus dem gesunden Viertel kaum resorbiert, es wird nur in der Milch von behandelten Vierteln wiedergefunden. Dies bestätigten auch die Versuche von ZIV und SCHULTZE und SIDDIQUE et al.

ZIV und SCHULTZE (1982 b) erhielten bei einer Dosierung von 1 Mio IE Polymyxin B eine Wiederfindungsrate nach 12 Stunden von $78 \pm 9,6\%$ mit einer Schwankungsbreite von 200 bis 550 IE/ml. Annähernd die gleichen Ergebnisse wurden in den vorliegenden Versuchen mit einer Schwankungsbreite von 350 bis 550 IE/ml und einer Ausscheidungsdauer über 6 Melkzeiten (ZIV 7 Melkzeiten) erzielt. Abweichungen ergaben sich im weiteren Verlauf der Ausscheidungshöhen. Die Wiederfindungsrate betrug bei ZIV und SCHULTZE nach 24 Stunden über 90%. Dies wurde bei den hier durchgeführten Versuchen bei den meisten Kühen nicht erreicht. Der Grund für diese Verschiebung der Ausscheidungshöhen dürfte darin zu sehen sein, daß die zum Versuch zur Verfügung stehenden Kühe im Verlauf einer Versuchswoche auch ständig den Belastungen klinischer Demonstrationen unterworfen waren und deshalb teilweise Unterschiede in der täglichen Milchmenge auftraten.

SIDDIQUE et al (1965) befaßten sich mit den Ausscheidungshöhen nach einer dreimaligen Gabe im Abstand von 12 Stunden von 50.000 IE Polymyxin B pro Viertel. Die von ihnen ermittelten Konzentrationen lagen mit 21,6 bis 72,0 IE/ml höher als die hier gefundenen mit 20 bis 30 IE/ml. Die höheren Konzentrationen dürften ihre Ursache im kumulativen Effekt der dreimaligen Gabe haben.

Die durchschnittlichen MHK-Werte von Polymyxin B gegenüber *E. coli* liegen bei 1,43 µg/ml (SØGAARD, 1982 b), 1,53 µg/ml (SCHIFFERLI et al, 1984) und 1,0 µg/ml (SCHNEEMEIER, 1985). 96,9% (SØGAARD, 1982 b), 86% (GEDEK, 1984) bzw. 88,1% (SCHNEEMEIER, 1985) der isolierten *E. coli* werden bei einer Polymyxin B-Konzentration von 2 µg/ml gehemmt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß in gesunden Eutervierteln schon bei einer Dosierung von 100.000 IE die MHK von Polymyxin B mit 2 µg/ml gegenüber E. coli über 12 Stunden deutlich überschritten wird. GEDEK (1983) fordert als Therapiesicherheit ein zwei- bis vierfaches, BERCHTOLD (1984) ein sechsfaches Überschreiten der MHK. Die gefundene Konzentration von 46 IE ($\approx$ 4,9 µg/ml) zur 1. Melkzeit entspricht etwa dem 2,5fachen des MHK-Wertes von 2 µg/ml.

Bei Dosierungen über 1 Mio IE wird die MHK um mehr als das 30fache überschritten.

Diese Ergebnisse gelten jedoch nur für die gesunde Milchdrüse. Die Frage bleibt, wie sich Polymyxin B im akut entzündeten, schwer geschädigten Euter verhält. Hierzu gibt es nur eine Untersuchung von ZIV und SCHULTZE (1982 b). Die Konzentrationen in der Milch akut entzündeter Viertel waren deutlich niedriger als in gesunden. Die Wiederfindungsrate nach 12 Stunden betrug nur 51%, nach 24 Stunden 55%. Polymyxin B-Konzentrationen wurden sowohl in unbehandelten Vierteln als auch im Blut und Harn gemessen. ZIV und SCHULTZE erklärten dies durch die schwere Schädigung der Milch-Blut-Schranke bei akuten Coli-Mastitiden, wodurch die Polymyxin B-Moleküle in die Blutbahn übertreten können.

Für die Festlegung einer therapeutisch notwendigen Mindestdosierung von Polymyxin B bei akuten Coli-Mastitiden sind 2 Faktoren zu berücksichtigen:

1. Das stark voneinander abweichende pharmakokinetische Verhalten von Polymyxin B im gesunden und akut erkrankten Viertel.
2. Die Endotoxinneutralisierende Wirkung von Polymyxin B.

Bei den am gesunden Euter gefundenen Polymyxin B-Konzentrationen 12 Stunden p. appl. würde eine Dosis von 100.000 IE die Forderung GEDEK's (1983) nach Therapiesicherheit erfüllen.

Beim akut erkrankten Viertel erhielten ZIV und SCHULTZE (1982 b) 12 Stunden nach der Behandlung eine Wiederfindungsrate von 51%. Legt man diese Ergebnisse einer Dosierungsberechnung zugrunde, so müßte die Mindestdosis beim akut erkrankten Viertel etwa 500.000 IE betragen. Die Milchkonzentrationen bei 500.000 IE/Viertel lagen nach einer Melkzeit zwischen 170 und 230 IE/ml. Dies entsprach einer durchschnittlichen Gesamtausscheidung von 67,1%. Bei 51% ergäben sich somit Konzentrationen um 130 bis 175 IE/ml. Dies entspricht etwa dem 7fachen der MHK von 2 µg/ml (≈ 19 IE), die Forderung BERCHTOLD's (1984) nach Therapiesicherheit wäre damit erfüllt.

100 µg Polymyxin B pro ml Sekret sind in der Lage, 200 ng E. coli-Endotoxin zu neutralisieren (ZIV et al, 1978). Die Endotoxinspiegel in akut erkrankten Vierteln scheinen sehr hoch zu sein. Endotoxinspuren wurden bis zur 10^9 fachen Verdünnung des gewonnenen Sekrets entdeckt (HARTMANN, ZIV und SARAN, 1976).

Da sich die von GEDEK (1983) und BERCHTOLD (1984) aufgestellten Forderungen nach Therapiesicherheit nur auf die minimale Hemmkonzentration, also auf die bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung von Antibiotika beziehen, muß die theoretisch errechnete Polymyxin B-Dosierung von 500.000 IE/Viertel weiter erhöht werden, wenn die endotoxinneutralisierende Wirkung zur Geltung kommen soll.

WEIGT (1979) und HAMMAN (1984) berichten von einer klinischen Besserung akut entzündeter Viertel bei einer Dosierung von 1-2 Mio IE. Die therapeutisch notwendige Minstdosierung dürfte somit im Bereich zwischen 500.000 und 2 Mio IE/Viertel liegen.

Von den zur Zeit auf dem Markt befindlichen Polymyxin B-haltigen Fertigpräparaten enthält nur eines über 500.000 IE Polymyxin B.

Um bei Untersuchungen zur Eliminationskinetik von Antibiotika in Milch zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen, werden diese in der Regel an eutergesunden Kühen vorgenommen. Da sich die Eliminationskinetik von Polymyxin B bei gesunden und akut erkrankten Vierteln nach ZIV und SCHULTZE (1982 b) jedoch deutlich unterscheidet, wären im Falle von Polymyxin B dringend weitere Untersuchungen an akut erkrankten Mastitis-vierteln nötig. Dem stehen erhebliche Schwierigkeiten entgegen:

Bei der Festlegung einer Minstdosierung muß die Dosierung so lange gesenkt werden, bis keine klinische Besserung mehr eintritt. Dies würde aber bei einer akuten Coli-Mastitis zu Verlusten an Tieren führen, was erhebliche Kosten verursachen würde. Außerdem ist eine Standardmastitis bei spontaner Infektion nicht möglich. Da akute Mastitiden nur zu ca. 50% von E. coli verursacht werden (BERCHTOLD, 1982), liegt auch hier bei ausschließlicher Verwendung von Polymyxin B zur Therapie ein großes Behandlungsrisiko vor.

Auch bei experimentell erzeugter Mastitis mit E. coli-Endotoxin kann das Behandlungsrisiko nur teilweise gemindert werden, individuelle Reaktionen dürften zu großen Schwankungsbreiten bei der therapeutischen Mindestdosis führen. Desweiteren ist nicht geklärt, ob eine experimentell erzeugte E. coli-Endotoxin-Mastitis mit einer spontanen Coli-Mastitis gleichzusetzen ist.

Da sich nach ZIV und SCHULTZE (1982 b) das Ausscheidungsverhalten von Polymyxin B bei Instillation in akut entzündete Viertel gegenüber der Instillation in gesunde Viertel deutlich unterscheidet und die Wirksamkeit der in diesen Versuchen als Mindestdosis gefundenen Dosierung von 100.000 IE Polymyxin B im klinischen Versuch mit akuten Mastitiden nicht untersucht werden konnte, kann diese Dosierung bis zur klinischen Überprüfung nicht als Orientierungshilfe für die Therapie dienen.

6. Zusammenfassung

1. Nach intramammärer Verabreichung verschiedener Polymyxin B-Dosierungen (10.000, 50.000, 100.000, 500.000, 1 Mio., 1,5 Mio. und 2 Mio. IE/Viertel) in gesunde Euterviertel wurden die zugehörigen Milchspiegelkurven erstellt.
2. Polymyxin B wurde zu über 90% mit der Milch ausgeschieden.
3. Die Ausscheidungshöhe und -dauer war von der Höhe der Anfangsdosis abhängig. Die Ausscheidungsdauer bewegte sich zwischen 2 und 6 Melkzeiten.
4. Polymyxin B-Rückstände in unbehandelten Vierteln wurden nicht nachgewiesen.

7. Summary

Polymyxin B-concentrations in milk after the intramammary application of different dosages into udders of normal cows.

1. After intramammary administration of different Polymyxin B-dosages (10.000, 50.000, 100.000, 500.000, 1 mio, 1,5 mio and 2 mio IU/quarter) into normal quarters of lactating cows, concentrations of Polymyxin B in samples of milk from the following milkings were determined.
2. More than 90% of the infused dose was recovered in the milk.
3. Duration of Polymyxin B in milk appeared to be dependent on the initial dose and ranged between the second and eighth milking.
4. Residues in non-treated quarters were not detected.

8. Literaturverzeichnis

1. ARCHIMBAULT, P.; BOUTIER, R.; MUSCAT, G. (1979)
Concentration et elimination dans le lait de quelques
antibiotics apres leur administration intramammaire. Bulletin
mémel de la societe veterinaire pratique de france. 63, 3,
163 - 183.
2. BERCHTOLD, M. (1982) Die Behandlung der akuten Mastitis.
Fortbildungsveranstaltung der Tierärztekammer Niedersachsen.
Hannover, 15./16. Oktober
3. BERCHTOLD, M. (1984) Persönliche Mitteilungen.
4. BLISS, E.A.; CHANDLER, A.; SCHONBACH, E.B. (1951)
In vitro studies of polymyxin. Am. N.Y. Acad. Sci. 51, 945.
5. BRANDER, G.C.; PUGH, D.M. (1977) Verterinary applied
pharmacology and therapeutics. Bailliere Tindall, London.
3rd edn., 356 - 358.
6. BRILLOT, J. (1981) Persönliche Mitteilungen, zit. n.
SØGAARD, H. (1982 a).
7. BRYANT, R.E.; HAMMOND, D. (1974) Interaction of purulent
material with antibiotics used to treat Pseudomonas
infections. Antimicrobial agents and chemotherapy. 6, 702 -
707. zit. n. ZIV et al (1982 a).
8. CRAIG, W.A.; KUNIN, C.M. (1976) Significance of serum
protein and tissue binding of antimicrobial agents. Annual
review of medicine. 27, 287 -300. zit. n. ZIV et al (1982 a).

9. DIN 98940, Teil 1 (1979) Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika. Beuth Verlag Berlin/Köln. 10.79.

10. FORTH, W.; HENSCHLER, D.; RUMMEL, W. (1983) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 4. Auflage, Wissenschaftsverlag Mannheim, Wien, Zürich.

11. GARROD, L.B.; LAMBERT, H.B.; O'GRADY, F. (1978) Antibiotics and chemotherapy. 4. Auflage, Churchill Livingstone, Edinburgh.

12. GEDEK, W. (1983) Antibiotikamilchspiegel nach Euterbehandlungen als Orientierungshilfe für die Therapie. Der prakt. Tierarzt 64, 214 - 221.

13. GEDEK, W. (1984) Chemotherapeutika-Resistenz gramnegativer Mastitiserreger, Tierärztl. Umschau 39, 513 - 518.

14. GRUNERT, E.; WEIGT, U. (1984) Euterkrankheiten. In: Buiatrik, 4. Auflage B I, Verlag M. & H. Schaper, Hannover, 54 - 58.

15. HAMMAN, J. (1984) Orientierende Untersuchungen zur Behandlung akuter E. coli-Mastitiden mit Polymyxin B. Fachpraxis ALBRECHT 18, 480 - 481.

16. HARTMANN, J.; ZIV, G.; SARAN, A. (1976) Application of the limulus amoebocyte lysate test for the detection of gramnegative bacterial endotoxins in normal and mastitic milk. Res. Vet. Sci. 20, 342 - 343. zit. n. ZIV et al (1978).

17. KAGAN, B.M.; KREVSky, D.; MILZER, A.; LOCKE, M.
(1948-1951) Polymyxin B and Polymyxin E. AM. N.Y. Acad. Sci.
51, 402.
18. LINZENMEIER, G.; FREISLEDERER, W.; APAK, S.; METZ, H.
(1961) Bakterielle und therapeutische Beobachtungen bei
Säuglingsdyspepsien, verursacht durch klassische und neue
Serotypen von E. coli. Münch. Med. Wschr. 103, 1398.
19. MC DONALD, J.P.S.; MC DONALD, T.P.J.; ANDERSON, A.J.
(1977) Antimicrobial sensitivity of aerobic gramnegative rods
isolated from bovine udder infection. Am. J. Vet. Res. 38,
1503 - 1507.
20. MEYERS, JAWETZ, GOLDFIEN (1975) Lehrbuch der Pharma-
kologie und Toxikologie. Springer Verlag Berlin, Heidelberg,
New York.
21. NOUWS, J.F.M.; ZIV, G. (1981) Pharmacological aspects of
chloramphenicol administration by the intramammary route to
laktating dairy cows. The Veterinary Journal. 4, 23 - 31.
zit. n. ZIV und SCHULTZE (1982 b).
22. PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT für Chemotherapie, Arbeits-
gemeinschaft Resistenz (1983) Resistenz klinischer Isolate
einiger Enterobacteriaceae sowie Pseudomonas aeruginosa,
Staphylococcus aureus und Streptococcus faecalis gegenüber
Chemotherapeutika. Ergebnisse einer überregionalen
kooperativen Studie aus den Jahren 1980 und 1981. Infection
10, 310 - 314. zit. n. GEDEK (1984).
23. PFIZER, Fa. (1984) Persönliche Mitteilungen

24. REIMER, L.G.; STRATTON, C.W.; RELLER, L.B. (1981)
Minimum inhibitory and bactericidal concentration of 44
antimicrobial agents against three standard control strains
in broth with and without human serum. Antimicrob. Agents and
Chemotherapy. 19, 1050 - 1055.
25. SABATH, L.D. (1978) Six factors that increase the
activity of antibiotics in vivo. Infection 6 (suppl 1), 67 -
71.
26. SCHALM, O.W.; CARROLL, E.J.; JAIN, N.C. (1971)
Bovine Mastitis. Lea Febiger, Philadelphia
27. SCHIFFERLI, D.; SCHÄLLIBAUM, M.; NICOLET, J. (1984)
Bestimmungen der Minimalhemmkonzentration bei Mastitiser-
regern beim Rind. Schweiz. Arch. Tierheilk. 126, 23 - 34.
28. SCHNEEMEIER, J. (1985) Empfindlichkeitsprüfung von
euterpathogenen coliformen Keimen gegenüber Polymyxin B.
Vet. Diss. München.
29. SIDDIQUE, J.H.; LOKEN, K.J.; HOYT, H.H. (1965)
Concentrations of Neomycin, Dihydrostreptomycin and Polymyxin
in milk after intramuscular or intramammary administration.
J. Am. Vet. Med. Ass. 146, 594 - 599.
30. SPRANGER, J. (1961) Untersuchungsergebnisse über Polymyxin
B in vivo und in vitro. Zeitschr. Kinderheilk. 85, 505.
31. SØGAARD, H. (1982 a) The pharmacodynamics of polymyxin
antibiotics with special reference to drug resistance
liability. J. Vet. Pharmacol. Therap. 5, 219 - 231.

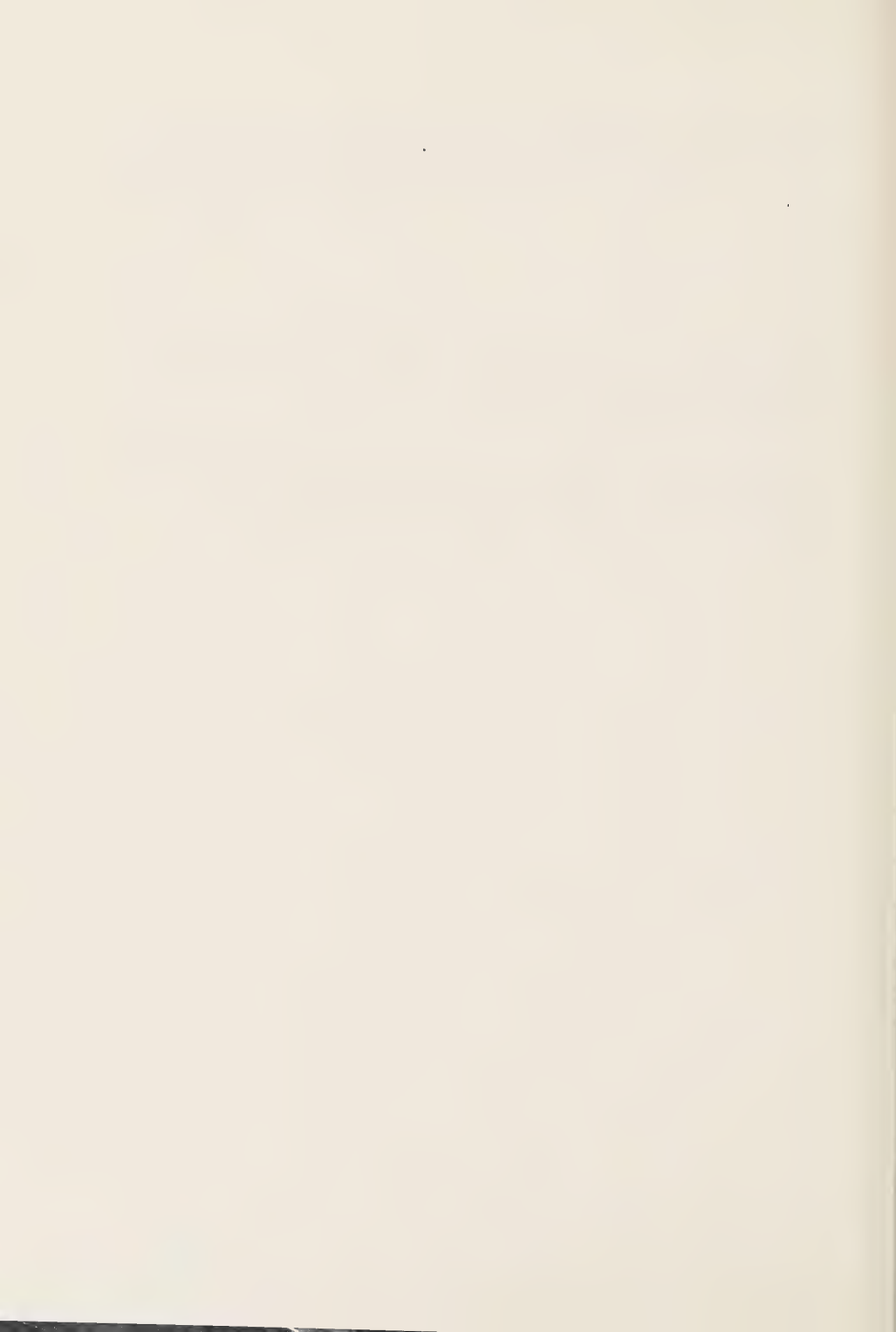
32. SÖGAARD, H. (1982 b) In vitro susceptibility of *E. coli*, isolates from acute and chronic bovine mastitis with reference to clinical efficiency. Nordisc. Vet. Med. 34, 248 - 254.
33. VAN MIERT, A.S.; VAN DUIN, C.T. (1977) The antipyretic effect of polymyxin B in endotoxin-induced fever. Vet. Science Communications 1, 79 - 84. zit. n. ZIV et al (1978).
34. VERHEIJDEN, J.H.; VAN MIERT, A.S.; SCHOTMANN, A.J.; VAN DUIN, C.T. (1982) Plasma zinc and iron concentrations as measurements for evaluating the influence of endotoxin-neutralizing agents in *E. coli* endotoxin-induced mastitis. Am. J. Vet. Res., 43 (4), 724 - 728.
35. WAGENSEIL, F. (1966) Die Ausscheidung verschiedener Penicillinarten in der Milch nach intramuskulärer Verabreichung beim Rind. Vet. Diss. München.
36. WALTER, A.M.; HEILMEYER, L. (1975) Antibiotika-Fibel. 4. Aufl. Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 525 - 538.
37. WEIGT, U. (1979) Persönliche Mitteilungen. zit. n. ZIV (1980 b).
38. ZIV, G.; SULMAN, F.G. (1972) Binding of antibiotics to bovine and ovine serum. Antimicrob. Agents and Chemotherapy 2, 206 - 213. zit. n. ZIV et al (1980 b).

39. ZIV, G.; SULMAN, F.G. (1973) Passage of polymyxins from serum into milk in ewes. Am. J. Vet. Res. 34, 317 - 322.
40. ZIV, G.; SULMAN, F.G. (1975) Absorption of antibiotics from the bovine udder. J. Dairy Science 58, 1637 - 1644. zit. n. ZIV und SCHULTZE (1982 b)
41. ZIV, G.; HARTMANN, I.; TORTEN, M. (1978) In vitro inactivation of endotoxin by polymyxin B and colistin in mastitic milk. J. Vet. Pharmacol. Therap. 1, 213 - 216.
42. ZIV, G.; WANNER, M.; NICOLET, J. (1980 a) Clinical pharmacology of polymyxin B, colistin and colistimethate in young dairy calves. J. Vet. Pharmacol. Therap. 3, 87 - 94.
43. ZIV, G. (1980 b) Availability and usage of new antibacterial drugs in Europe. J. Am. Vet. Med. Ass. 176, 1122 - 1128.
44. ZIV, G. (1980 c) Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy: intramammary treatment. Vet. Med./Small Animal Clinician 75, 657 - 670.
45. ZIV, G.; NOUWS, J.F.; VAN GENNEKEN, C.A. (1982 a) The pharmacokinetics and tissue levels of polymyxin B, colistin and gentamicin in calves. J. Vet. Pharmacol. Therap. 5, 45 - 58.
46. ZIV, G.; SCHULTZE, W.D. (1982 b) Pharmacokinetics of polymyxin B administered via the bovine mammary gland. J. Vet. Pharmacol. Therap. 5, 123 - 128.

47. ZIV, G.; SCHULTZE, W.D. (1983) Influence of intramammary infusion of polymyxin B on the clinicopathologic course of endotoxin-induced mastitis. Am. J. Vet. Res. 44, 8, 1446 - 1450.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Walser für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Außerdem danke ich den Mitarbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik München, die mir bei der Durchführung der Untersuchungen behilflich waren.



Lebenslauf

Am 23. August 1957 wurde ich als ältestes Kind des Sonderschulrektors Manfred Leiber und seiner Ehefrau Uta Leiber, geb. Müller, in Donaueschingen geboren.

Von 1964 bis 1967 besuchte ich die Grundschule in Furtwangen. Dann wechselte ich auf das Gymnasium Furtwangen über, an dem ich 1976 das Abitur ablegte.

Nach meinem 15-monatigen Grundwehrdienst begann ich im November 1977 an der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin, das ich im Januar 1983 mit dem Staatsexamen abschloß.

Die Approbation als Tierarzt erhielt ich am 14. Februar 1983.

Seit dieser Zeit arbeite ich als Doktorand an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik München und als Praxisvertreter in verschiedenen Tierarztpraxen in Bayern und Baden-Württemberg.





